

**ELABORACIÓN Y VALIDACIÓN DE ESCALA DIAGRAMÁTICA DE  
SEVERIDAD DE LA ANTRACNOSIS (*Colletotrichum* spp.) EN LIMA ÁCIDA  
TAHITÍ Y SU APLICACIÓN BAJO CONDICIONES DE CAMPO**

**JUAN SEBASTIÁN HERNÁNDEZ OSORIO.**

**Directora:**  
**ANGELA MARIA MOGOLLÓN ORTIZ**  
**Docente Unillanos**

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**  
**INGENIERÍA AGRONÓMICA**  
**VILLAVICENCIO-META**

**2016**

## TABLA DE CONTENIDO

1.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	6
2.	JUSTIFICACIÓN .....	7
3.	OBJETIVOS.....	8
3.1	Objetivo General .....	8
3.2	Objetivos específicos .....	8
4.	MARCO TEÓRICO.....	9
4.1	Lima Tahití Citrus latifolia.....	9
4.2	Antracnosis en Cítricos .....	10
4.3	Diagramas de Severidad.....	10
5	METODOLOGÍA.....	11
5.1	Lugar del Experimento.....	11
5.2	Elaboración de Escala de Severidad .....	11
5.3	Validación de la escala de Severidad.....	12
5.4	Uso de la Escala en Campo .....	13
5.5	Efecto de los factores climáticos en el desarrollo de la enfermedad. ....	15
5.6	Variables De Respuesta .....	15
6	RESULTADOS .....	16
6.1	Elaboración de Escala de severidad.....	16
6.2	Validación de Escala de Severidad .....	17
6.3	Relación de Variables climáticas y el desarrollo de la enfermedad .....	21
6.4	Número de cálices persistentes en ramas de Lima Ácida Tahití .....	22
7	DISCUSIÓN.....	25
7.1	Elaboración y validación de escala de severidad.....	25
7.2	Relación de Variables climáticas y el desarrollo de la enfermedad .....	26
7.3	Evaluación del porcentaje de Cálices persistentes.....	27

8	CONCLUSIONES .....	28
9	CRONOGRAMA .....	29
10	PRESUPUESTO .....	30
11	BIBLIOGRAFÍA.....	31
12	ANEXOS.....	36

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Interceptos (a), coeficientes de inclinación (b) y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de la regresión lineal para la severidad real (variable independiente) versus la severidad estimada (variable dependiente).....	18
<b>Tabla 2.</b> Prueba de Tukey para “días de evolución de los síntomas de la Antracnosis ( <i>Colletotrichum</i> spp)”, variable respuesta “Severidad e incidencia” en flores de Lima Ácida Tahiti .....	21
<b>Tabla 3.</b> Cronograma de actividades .....	29
<b>Tabla 4.</b> Presupuesto .....	30

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Cultivo de Lima Ácida Tahiti, Corpoica La Libertad .....	11
<b>Figura 2</b> Flores de lima Ácida Tahiti con síntomas de Antracnosis, Lesiones color naranja. <b>a.</b> Severidad inicial. <b>b.</b> Severidad Máxima .....	12
<b>Figura 3.</b> Toma de fotografías para elaboración de escala de Severidad. <b>a.</b> Montaje en Trípode de cámara a una altura de 10 cm y fondo oscuro para captura de imagen. <b>b.</b> Flor y porción de hoja milimetrada como escala necesaria para el análisis de imagen con el software .....	12
<b>Figura 4.</b> Estimación de severidad. <b>a.</b> Ingeniero estimando severidad de manera individual. <b>b.</b> Grupo de estudiantes estimado severidad.....	13
<b>Figura 5.</b> Uso de la escala de severidad en campo. <b>a.</b> Rama con botones florales de Lima Ácida Tahiti marcada. <b>b.</b> Evaluación de severidad haciendo uso de la escala diagramática.....	14
<b>Figura 6.</b> Síntomas de la Antracnosis en Lima Ácida Tahiti. <b>a.</b> Lesión inicial. <b>b.</b> Lesión avanzada de la Antracnosis en Lima Ácida Tahiti. ....	16
<b>Figura 7.</b> Escala de severidad diagramática de Lima ácida tahiti ( <i>Citrus latifolia</i> ) que demuestra el porcentaje de área afectada por <i>Colletotrichum</i> spp. Tejido Sano color negro, tejido Afectado, Blanco. ....	17
<b>Figura 8.</b> Severidad estimada por parte del grupo 1 haciendo uso de la escala. Regresión lineal obtenida. ....	20
<b>Figura 9.</b> Severidad estimada por parte del grupo 2 haciendo uso de la escala. Regresión lineal obtenida .....	21
<b>Figura 10.</b> Variables climáticas e incidencia de la Antracnosis en flores de Lima ácida Tahiti durante las floraciones de Octubre de 2015, marzo y abril de 2016. <b>a.</b> Precipitación durante los 4 días de evaluación en las tres floraciones. <b>b.</b> Humedad Relativa. <b>c.</b> Temperatura media. <b>d.</b> Porcentaje de incidencia. ....	23
<b>Figura 11.</b> Precipitación acumulada y temperatura Media durante las floraciones de Octubre de 2015 y Marzo y abril de 2016.....	24
<b>Figura 12.</b> Porcentajes de cálices persistentes en ramas de Lima ácida Tahiti registrados durante las floraciones de Octubre de 2015, marzo y abril de 2016.....	24

## INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. .Imágenes proyectadas a las personas que participaron de la validación de la escala de severidad .....	36
<b>Anexo 2.</b> Formato de registro de severidad estimada .....	37
<b>Anexo 3.</b> .Análisis de varianza Severidad Vs Patrón, Mes de floración, Días de evaluación de la enfermedad .....	38
<b>Anexo 4.</b> .Análisis de Varianza Incidencia Vs Patrón, Mes de floración, Días de evaluación de la enfermedad .....	38
<b>Anexo 5.</b> . Anova Calices persistentes vs patron.....	39
<b>Anexo 6.</b> Anova cálices persistentes vs mes .....	39

### 1.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

*Colletotrichum acutatum*, agente causal de la antracnosis en cítricos o también conocida como caída prematura de los frutos, es considerada una de las enfermedades más limitantes en el cultivo. Bajo condiciones de alta precipitación y humedad relativa el patógeno puede afectar por completo la floración en el cultivo de los cítricos (Agrios, 2005).

Reportes de Naqvi (2004) indican que el patógeno afecta todas las especies de cítricos, sin embargo, es más limitante en aquellas especies que retienen por más tiempo los botones y flores. Las lesiones ocasionadas por el patógeno son de color naranja-marrón y afectan por completo los pétalos y finalmente dan lugar a la abscisión de los frutos. En reportes más recientes se ha demostrado que el patógeno puede causar la pérdida de hasta del 100% de los frutos (Guillardi *et al.*, 2014). En los Llanos Orientales, la antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum* spp., ocasiona graves daños en los estados de floración y cuajado del fruto, produciendo caída de botones florales, flores y frutos en formación (Orduz *et al.*, 2009).

Uno de los problemas cuando se pretenden comprender el desarrollo de las enfermedades y su relación con factores climáticos es la falta de Diagramas de severidad, en este caso particular del patosistema *Colletotrichum*-Lima Ácida Tahití. De ahí la importancia que se elaboren diagramas que permitan conocer el desarrollo de la enfermedad y a futuro se les de uso para determinar la efectividad de tratamientos de control y la susceptibilidad de hospedantes (Castaño, 2002). Teniendo en cuenta lo anterior en esta investigación nos planteamos la elaboración de Diagramas de Severidad y su aplicación en Campo para evaluar el desarrollo de la Antracnosis en Lima Ácida Tahití.

## 2. JUSTIFICACIÓN

Colombia ocupa el puesto 30 con relación a la producción mundial de cítricos, con 957.000 toneladas, sembradas en 55.000 hectáreas. La tasa de crecimiento de la producción en los últimos diez años ha sido del 6.8% y del 7% en área sembrada (MADR, 2006). Los cítricos constituyen el segundo renglón de importancia económica en producción de frutas en Colombia (Caicedo *et al.*, 2006). A nivel nacional, se destaca el departamento del Meta por tener alrededor de siete mil ha de cítricos sembradas, entre ellos Naranja, Mandarina, Lima ácida Tahití y Tangelo Minneola con un 60, 20, 10, y 10% del área cultivada, respectivamente (Mateus *et al.*, 2010). Con relación a la Lima Ácida Tahití, existen en el departamento del Meta alrededor de 700 ha cultivadas (Quiroga *et al.*, 2010). Teniendo en cuenta lo anterior se hace necesario dar prioridad a los problemas de índole fitosanitario como la Antracnosis en cítricos, cuyo agente causal es *Colletotrichum acutatum*, responsable de la reducción en el rendimiento en el cultivo de cítricos (Rodrigues *et al.*, 2013).

Para darle solución a problemas fitosanitarios es necesario comprender el progreso de las enfermedades en plantas a través del tiempo, así como su relación con factores climáticos. Para ello es necesario la elaboración y el uso los diagramas estándar de severidad de enfermedades, los cuales además permiten determinar el progreso de la enfermedad facilitan conocer la susceptibilidad varietal y la efectividad de métodos en control de enfermedades (Castaño, 2002). De ahí la importancia de enfocarnos en la elaboración de dichos diagramas de severidad y su aplicación en campo.

La relación del clima, el patógeno y el hospedante se ha demostrado en reportes previos donde se destaca que los largos periodos de lluvias favorecen la diseminación del patógeno y el desarrollo del mismo (Agostini *et al.*, 1993) de ahí la importancia de estudiar los factores climáticos y conocer la relación con la enfermedad.

Elaborar y validar diagramas de severidad del patosistema *Colletotrichum* spp.- Lima ácida Tahití será de gran ayuda para futuras investigaciones enfocadas hacia el manejo fitosanitario de esta enfermedad. Además será una herramienta que podrán utilizar en campo por agricultores, técnicos, ingenieros, así como estudiantes interesados en la problemática.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Desarrollar la escala diagramática de severidad del patosistema *Colletotrichum* spp- Lima Ácida Tahití para su aplicación en campo.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Elaborar el diagrama de severidad de la Antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en Lima ácida Tahití en etapa de flor.
- Validar la escala de severidad del patosistema *Colletotrichum*-Lima Ácida Tahití
- Evaluar los factores climáticos que favorecen el desarrollo de la antracnosis en Lima Ácida Tahití bajo condiciones de campo

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 Lima Tahití *Citrus latifolia*

Segùn Vanegas (2002) la clasificación botánica de la lima tahití es; Clase: Dicotiledóneas, Subclase: Arquiciamideas, Orden: Geraniales, Sub-orden: Geraniineas, Familia: Rutaceae, Subfamilia: Aurantioideae, Género: *Citrus*, Especie: *C. latifolia*.

El origen del limón Tahití es desconocido. Se presume que es un híbrido entre la lima mexicana y el citron. Se cree que este fue introducido al Mediterráneo a través de Iran (anteriormente Persia). Este cítrico no es un limón verdadero, es realmente una lima ácida, sin embargo, comúnmente se le conoce como limón tahití. En Colombia su cultivo se desarrolla bien entre los 0 y los 1800 m.s.n.m.

El limón Tahití es un árbol moderadamente vigoroso, de unos 5-6m casi sin espinas, de ramas inclinadas hacia abajo. Hojas lanceoladas, peciolo alado. Los brotes tiernos son púrpura. Las flores son ligeramente matizadas de púrpura. El fruto es un hesperidio oval, más largo que ancho, usualmente redondo en la base, el ápice es redondeado.

Sus flores fragantes son portadas en inflorescencias axilares de 1 a 7 flores. Cuando están plenamente expandidas, las flores son de 1.5 a 2,5 cm de diámetro con lóbulos de cáliz y pétalos de color blanco amarillento, estos últimos teñidos de morado a lo largo de sus márgenes. Las yemas son blancas en el interior y pequeñas.

Además sus frutos tienen una forma oval o de globo, con ápice ligeramente deprimido, coronados por una cicatriz estilar corta en forma de pezón y con numerosas glándulas hundidas, de tamaño mediano, con un diámetro ecuatorial que oscila entre 50 y 70 mm, la pulpa es verde-amarilla con ausencia de semillas.

Reportes de Bernal *et al.* (2001) indican que la Lima tahití es un árbol moderadamente vigoroso, de unos 5-6 m, casi sin espinas, de ramas inclinadas hacia abajo. Hojas lanceoladas, peciolo alado. Los brotes tiernos son púrpura. El fruto es un hesperidio oval, más largo que ancho, usualmente redondo en la base, el ápice es redondo con un leve pezón.

La corteza es verde oscuro, cuando madura se torna color pálido y su pulpa es color verde claro, ácida y usualmente sin semilla. Además la flor del limón tahití no presenta polen viable.

La propagación de la lima Tahití se hace generalmente por injerto utilizando como patrón el limón Rugoso o la mandarina Cleopatra. El tipo de injerto más utilizado es el de T invertida a unos 25 o 30 cm de altura.

La distancia de siembra más recomendada es de 6m X 6m en cuadro o tres bolillo para una población de 277 o 318 árboles/Ha respectivamente.

La cosecha en Colombia son de al menos dos veces por año, pero las mejores producciones se esperan al tercer año del cultivo, con un rendimiento de 30 Tn/Ha.

#### **4.2 Antracnosis en Cítricos**

*Colletotrichum* spp. agente causal de la Antracnosis se caracteriza por producir conidias dentro de acervulos, fructificación asexual en forma de cavidad. Las conidias son unicelulares, hialinas, pueden ser cilíndricas o puntudas, rectas o curvas (Pitt y Hocking, 2009).

El patógeno tiene la capacidad de sobrevivir en tejidos vegetativos antes de la floración, dando lugar a infecciones quiescentes (Mackenzie *et al.*, 2010). En pétalos y estigmas de cítricos el hongo da lugar a lesiones necróticas, que dan como resultado la caída de frutos (Rodrigues *et al.*, 2013), se ha demostrado que el agente causal de este problema es *C. acutatum*, mientras la pudrición en frutos es causada por *C. gloesporioides* una enfermedad importante en postcosecha (Bruce y Michereff, 2013). Según Alarcon *et al.* (2012) reportaron que los síntomas se pueden observar además en botones florales y frutos.

#### **4.3 Diagramas de Severidad**

La utilidad de los diagramas estándar es mostrar en forma real, varios niveles de severidad tomando en consideración el tamaño, forma y distribución de la lesión. Los diagramas muestran típicamente los síntomas de la enfermedad para un rango de severidades, frecuentemente hasta un 50% del área total (Gaunt, 1987). La severidad puede ser estimada por técnicas indirectas como es el uso de la incidencia.

El análisis de imágenes permite evaluar la severidad de enfermedades en forma objetiva, además de que el proceso puede ser automatizado (Bock *et al.*, 2008) con programas de dominio público para el análisis de imágenes, como es el programa ImageJ 1.48r (Rasband, 2014).

Barbedo (2013) considera que la estimación visual es preferida porque la medición mediante procesamiento de imágenes requiere de cierto grado de intervención del usuario, y porque el precio de los programas especializados es elevado.

## 5 METODOLOGÍA

### 5.1 Lugar del Experimento

La toma de datos climáticos y la aplicación en campo de la escala diagramática de severidad del patosistema *Colletotrichum* spp- Lima Ácida Tahití. (*Citrus latifolia* T.) se realizó en el Centro de Investigación Corpoica La Libertad, vía Puerto López, departamento del Meta (Figura 1)



**Figura 1. Cultivo de Lima Ácida Tahití, Corpoica La Libertad**

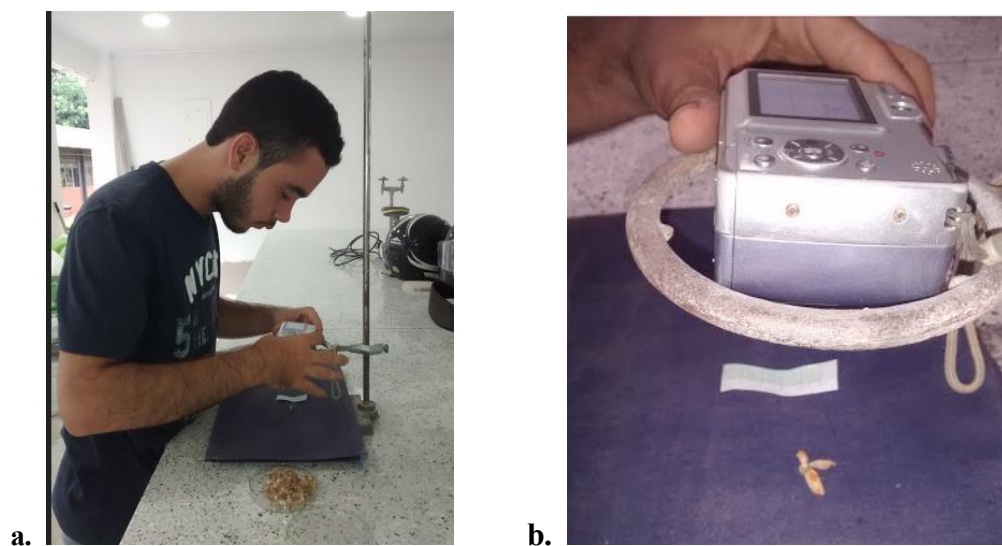
### 5.2 Elaboración de Escala de Severidad

Para la elaboración de la escala de severidad se realizó siguiendo la metodología propuesta por Scapin *et al.*, (2014) con algunas modificaciones. Para el proceso fue necesario recolectar flores enfermas de Lima ácida Tahití que mostraron diferentes estados de desarrollo de la enfermedad (Figura 2). Con ayuda de una cámara fotográfica digital ubicada a una altura de 10 cm y colocada sobre un tripode se tomaron fotografías a las flores enfermas (Figura 3), posteriormente estas imágenes fueron procesadas con el software Image J, que permitió medir el área foliar total y el área foliar enferma de cada flor y así se determinó el porcentaje real de severidad y los respectivos grados.



**Figura 2** Flores de lima Ácida Tahiti con síntomas de Antracnosis, Lesiones color naranja. **a.** Severidad inicial. **b.** Severidad Máxima

Se tuvo en cuenta los valores mínimos 1% y máximos 50% y así se determinaron los valores intermedios de severidad, basados en la ley de Weber Fechner de estímulo visual, que dice que la agudeza visual es proporcional al logaritmo de la intensidad del estímulo (Soares *et al.*, 2009).



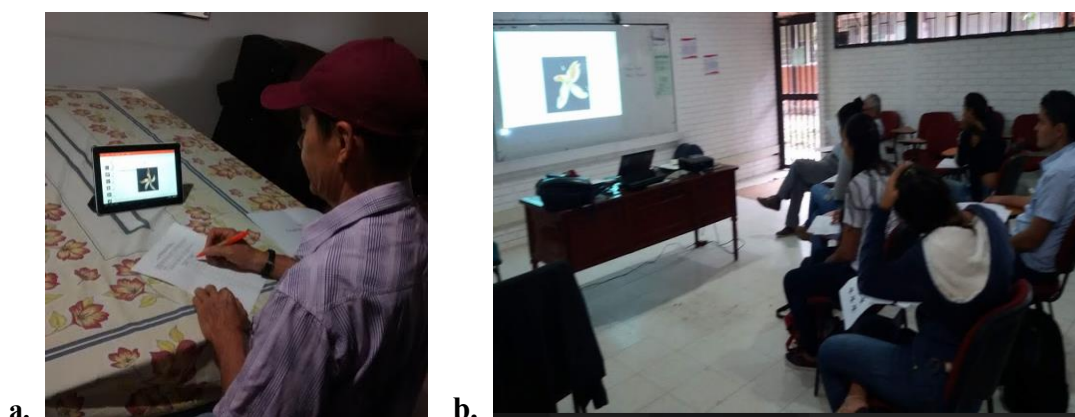
**Figura 3.** Toma de fotografías para elaboración de escala de Severidad. **a.** Montaje en Trípode de cámara a una altura de 10 cm y fondo oscuro para captura de imagen. **b.** Flor y porción de hoja milimetrada como escala necesaria para el análisis de imagen con el software

### 5.3 Validación de la escala de Severidad

En total fueron encuestados 2 grupos de personas cada uno compuesto por 8 personas

- Estudiantes de Ingeniería agronómica
- Ingenieros agrónomos

A cada persona se le proyectaron imágenes organizadas en un documento power point (Anexo 1), un total de 15 imágenes de flores de Lima Ácida Tahití cuyos valores de severidad oscilaron entre el 3 y el 50% fueron proyectadas (Figura 4), los valores de área afectada por el patógeno para cada flor fueron obtenidos con el programa Image J . Cada persona recibió la escala de severidad que comprendió 6 grados y un formato que incluía 15 casillas numeradas, en el cual debían consignar la severidad estimada de cada flor (Anexo 2).



**Figura 4.** Estimación de severidad. **a.** Ingeniero estimando severidad de manera individual. **b.** Grupo de estudiantes estimado severidad.

Se realizó la validación de la exactitud y la precisión se realizó siguiendo los reportes de Vieira *et al.* (2014) con algunas modificaciones de cada evaluador por medio de regresión lineal simple, teniendo la severidad real obtenida con el software de imagen como variable independiente y la severidad estimada como variable dependiente. Adicionalmente, el t-score (t-test) fue calculado para determinar la precisión tanto del intercepto (a) como del coeficiente de inclinación (b), empleando las siguientes hipótesis nulas:  $a = 0$ ,  $b = 1$ .

## 5.4 Uso de la Escala en Campo

### Toma de datos Climáticos

Se registraron las variables climatológicas como precipitación, temperatura media, humedad relativa. Los datos fueron proporcionados por la estación meteorológica ubicada en la Corpoeación Colombiana de Investigación - Corpoica La Libertad.

### Selección de Plantas de Lima ácida Tahití

Fueron evaluadas plantas de Lima ácida Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertadas sobre seis patrones diferentes entre ellos Sunki x English, Carrizo, Wolkamericano, Citromelo, Kryder y Cleopatra, las cuales se encontraban distribuidas en un lote con un total de 144

plantas de la misma especie sobre seis diferentes patrones en un diseño de bloques completos al azar con 4 repeticiones.

#### **Toma de datos de la incidencia y severidad de *Colletotrichum* spp. en etapa de flor**

Teniendo en cuenta el diseño de Bloques completos al azar con 4 repeticiones, fue seleccionada una planta de cada patrón en cada bloque, y por cada planta se marcaron 2 ramas (Figura 5 a), una vez inició la etapa de floración, se realizó la evaluación de incidencia y severidad en los estados flor abierta (Figura 5 b). Se determinó la evolución de la enfermedad a través del tiempo durante 4 días, en tres floraciones diferentes que comprendieron octubre 2015, marzo y abril de 2016.

El modelo de análisis de datos para las variables incidencia y severidad consistió en parcelas divididas arregladas en bloques (meses, 3 en total durante los cuales ocurrieron las floraciones) donde la parcela principal consistió en los patrones (6 patrones) y la subparcelas fue el tiempo en días de evolución de la enfermedad (4 días). Con relación a la variable cálices persistentes consistió en bloques, donde el tiempo fueron los bloques y el error fue la interacción del patrón con el tiempo

Se aplicaron las transformaciones Box-Cox. Los datos de severidad fueron transformados usando la fórmula  $(\text{Severidad} + 1)^{-0.3}$ . En cuanto a incidencia se aplicó  $\log(\text{Incidencia} + 1)$ . Los datos del porcentaje de cálices se transformaron con  $\log(\text{Calices} + 1)$ . Posteriormente, a todos los datos se les realizó análisis de varianza y pruebas Tukey utilizando el programa estadístico R.



**Figura 5.** Uso de la escala de severidad en campo. **a.** Rama con botones florales de Lima Ácida Tahití marcada. **b.** Evaluación de severidad haciendo uso de la escala diagramática.

### **5.5 Efecto de los factores climáticos en el desarrollo de la enfermedad.**

Se determinó el progreso de la enfermedad y su relación con variables climáticas. Se determinó el número de cálices persistentes en cada una de las ramas marcadas en cada floración.

### **5.6 Variables De Respuesta**

#### **Incidencia y severidad**

La incidencia se determinó contando el número total de flores en cada estado y el número de aquellas enfermas, en cada una de las 2 ramas seleccionadas por planta. La selección de las ramas por planta se realizará siguiendo las recomendaciones de Hernandez *et al.*, (2003) Las ramas deberán ser vigorosas y suficientemente maduras y deberán tener una proporción adecuada entre el número de hojas y el número de brotes florales.

La evaluación de severidad se realizó haciendo uso de la escala previamente elaborada en este estudio.

Una vez aparecieron los síntomas la evaluación de incidencia y severidad se realizaron diariamente.

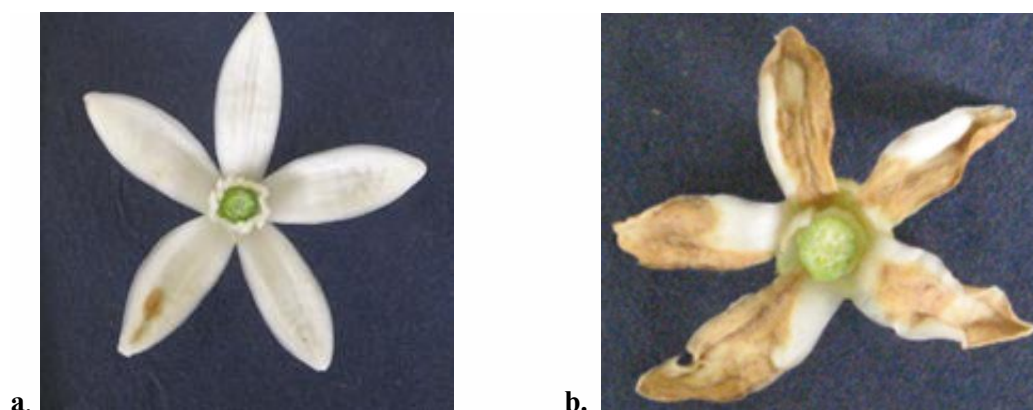
El porcentaje de cálices persistentes se determinó al final de la floración y teniendo en cuenta el número de botones florales iniciales y la caída fisiológica.



## 6 RESULTADOS

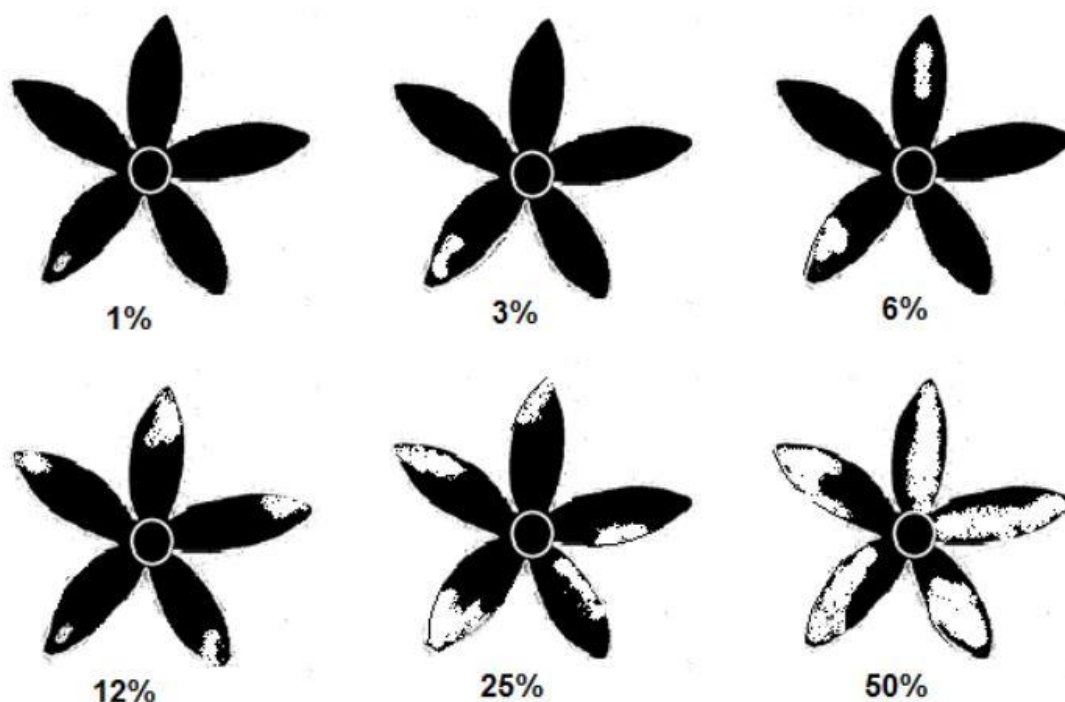
### 6.1 Elaboración de Escala de severidad

Los síntomas iniciales de la antracnosis en flores de Lima Ácida Tahití se caracterizaron por presentar en los pétalos lesiones pequeñas color naranja claro (Figura 6 a) que con el tiempo fueron creciendo hasta necrosar el tejido por completo. En las lesiones avanzadas se observó sobre la lesión esporas color naranja (Figura 6 b), debido a que los factores ambientales fueron favorables para el desarrollo del patógeno.



**Figura 6.** Síntomas de la Antracnosis en Lima Ácida Tahití. **a.** Lesión inicial. **b.** Lesión avanzada de la Antracnosis en Lima Ácida Tahití.

La escala diagramática elaborada presenta seis niveles de severidad. El nivel mínimo de porcentaje de área afectada por el patógeno fue de 1% y el máximo de 50% de área afectada. Finalmente la escala comprendió 0: sano; 1: 1% del área afectada; 2: 3% del área afectada; 3: 6% del área afectada; 4: 12% del área afectada; 5: 25% del área afectada y 6: 50% del área afectada. Los diagramas muestran el avance del patógeno en el tejido susceptible de flores de Lima Ácida Tahití (Figura 7).



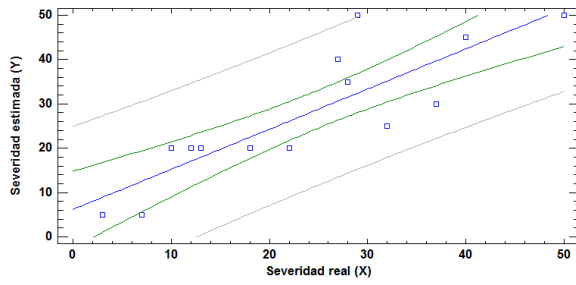
**Figura 7.** Escala de severidad diagramática de Lima ácida tahiti (*Citrus latifolia*) que demuestra el porcentaje de área afectada por *Colletotrichum* spp. Tejido Sano color negro, tejido Afectado, Blanco.

## 6.2 Validación de Escala de Severidad

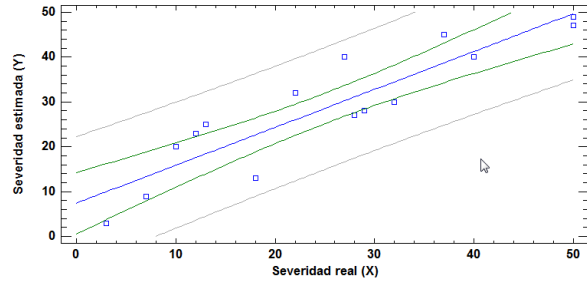
En relación con la exactitud, entendida como el grado de proximidad entre la media estimada y la realidad, basada en el análisis de los interceptos (a) y los coeficientes de inclinación (b), se presentaron valores significativos ( $P < 0.05$ ) para muy pocos evaluadores. De esta manera, apenas 3 evaluadores reportaron un intercepto significativo, lo implica una sobre estimación de la severidad estimada, mientras que para el coeficiente de inclinación, casi todos los valores fueron estadísticamente iguales a 1, es decir, cercano a la severidad real (Tabla 1, Figuras 8 y 9).

**Tabla 1** Interceptos (a), coeficientes de inclinación (b) y coeficientes de determinación ( $R^2$ ) de la regresión lineal para la severidad real (variable independiente) versus la severidad estimada (variable dependiente)

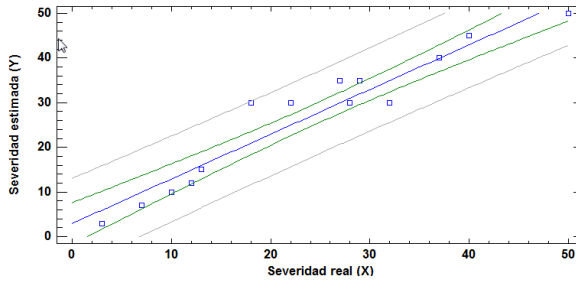
Evaluadores		a	b	$R^2$
Grupo 1 Estudiantes	1	6,18	0,91	0,77
	2	2,92	1,00	0,93
	3	6,13	0,85	0,85
	4	-1,71	0,93	0,86
	5	3,14	1,03	0,87
	6	7,42*	0,85	0,82
	7	5,52	0,83	0,78
	8	1,25	0,98	0,93
	9	1,63	0,95	0,97
	10	7,00*	0,90	0,84
Grupo 2 Ingenieros	1	6,36*	0,80*	0,89
	2	3,89	1,16	0,77
	3	8,04	0,92	0,79
	4	7,02	0,91	0,80
	5	4,18	0,99	0,90
	6	6,81	0,88	0,78
	7	6,27	0,91	0,77
	8	-0,98	1,13	0,83
*Situaciones en las cuales la hipótesis nula ( $a = 0$ ó $b = 1$ ) fueron rechazadas por t-test, $p < 0.05$				



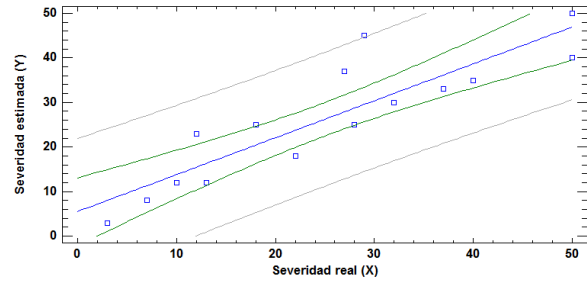
**Evaluador 1**



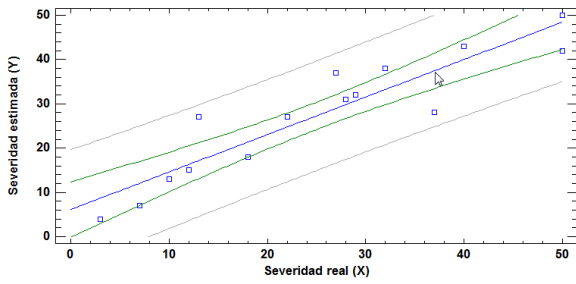
**Evaluador 6**



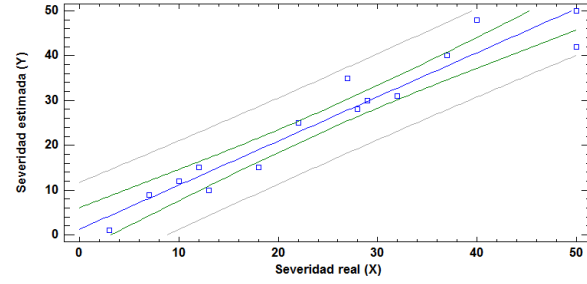
**Evaluador 2**



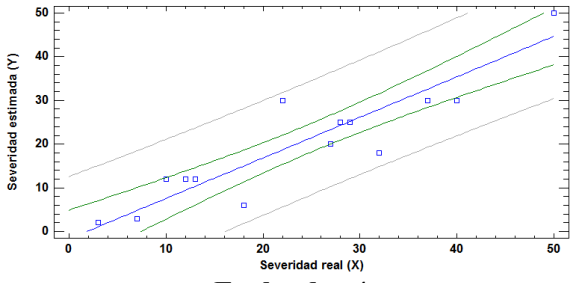
**Evaluador 7**



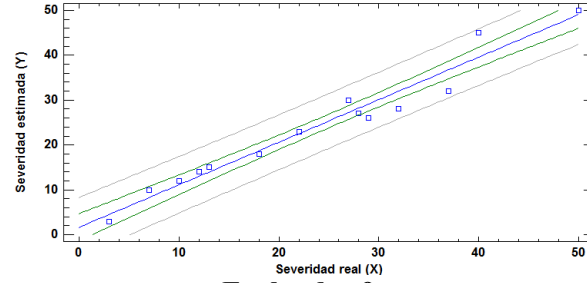
**Evaluador 3**



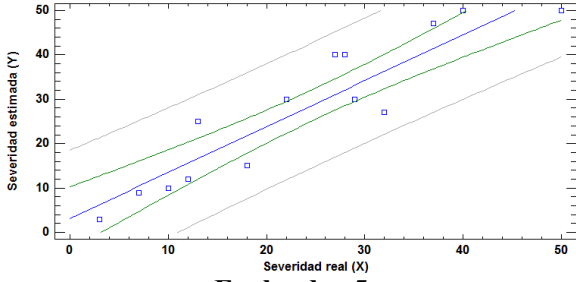
**Evaluador 8**



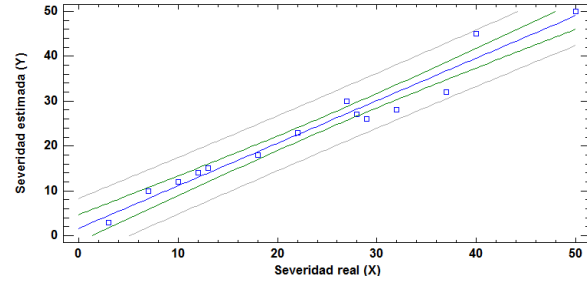
**Evaluador 4**



**Evaluador 9**

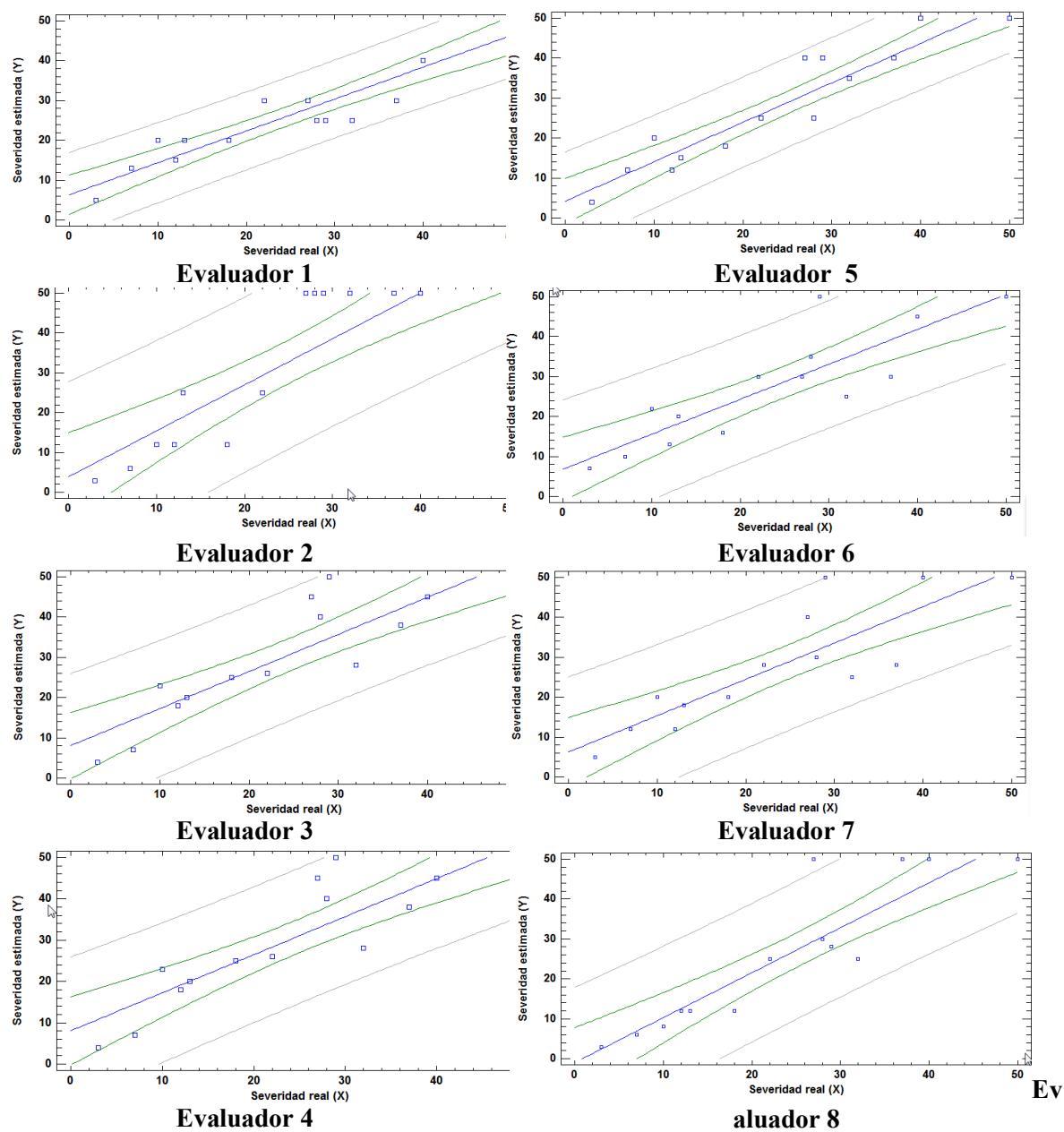


**Evaluador 5**



**Evaluador 10**

**Figura 8.** Severidad estimada por parte del grupo 1 haciendo uso de la escala. Regresión lineal obtenida.



**Figura 9.** Severidad estimada por parte del grupo 2 haciendo uso de la escala. Regresión lineal obtenida

En cuanto a la precisión, la cual es estimada a partir del coeficiente de determinación ( $R^2$ ), para el grupo 1 (Estudiantes de Ingeniería Agronómica) osciló entre 0,77 y 0.97, por su parte el grupo 2 (Ingenieros agronomos) la variabilidad estuvo entre 0,77 y 0.9 (Tabla 1, Figuras 8 y 9). Lo que demuestra que ambos grupos se comportaron de manera similar

### 6.3 Relación de Variables climáticas y el desarrollo de la enfermedad

En los registros de Corpoica, La libertad, Colombia fueron evaluadas plantas de Lima ácida Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertadas sobre seis patrones diferentes entre ellos Sunki x English, Carrizo, Wolkamericano, Citromelo, Kryder y Cleopatra, durante tres floraciones; la floración del mes de Octubre de 2015 (primera floración) , Marzo (segunda floración) y Abril de 2016 (tercera floración).

La severidad y la incidencia de las flores de Lima Ácida Tahití solamente mostraron diferencias significativas cuando se comparó el avance de la enfermedad a través del tiempo, es decir entre los cuatro días durante los cuales se realizó la evaluación de las variables en cada floración ( $P \leq 0.05$ ) (Anexo 1 y 2). Mas no se presentaron diferencias entre el tipo de patrón (Sunki x English, Carrizo, Wolkamericano, Citromelo, Kryder y Cleopatra) y el mes de floración (Octubre, Marzo y Abril), demostrando que los cantidad de tejido afectado y el porcentaje de flores enfermas se presentó de manera similar en los diferentes patrones y floraciones (anexo 3 y 4).

El progreso de la enfermedad a través del tiempo se vio reflejado en las variables de Severidad e Incidencia. A medida que los días avanzaron en cada floración se observó un incremento de la enfermedad en ambas variables. El primer día se presentaron los niveles más bajos de severidad e incidencia con valores de 6.2 y 27,3, respectivamente, los cuales fueron significativamente diferentes del segundo y tercer día, entre estos días no se presentaron diferencias significativas pero si con respecto al cuarto día que presentó los niveles más altos de enfermedad con 19.2 y 57.5 para incidencia y severidad respectivamente, demostrando un progreso de la enfermedad a través del tiempo (Tabla 2)

**Tabla 2.** Prueba de Tukey para “días de evolución de los síntomas de la Antracnosis (*Colletotrichum* spp)”, variable respuesta “Severidad e incidencia” en flores de Lima Ácida Tahití

Días de evolución de los síntomas	Severidad	Incidencia
4 (Cuarta Evaluación)	19.2 a	57.5 a

2 (Segunda Evaluación)	7.9 b	43.4 b
3 (Tercera Evaluación)	7.7 b	36.5 bc
1 (Primera Evaluación)	6.2 c	27.3 c

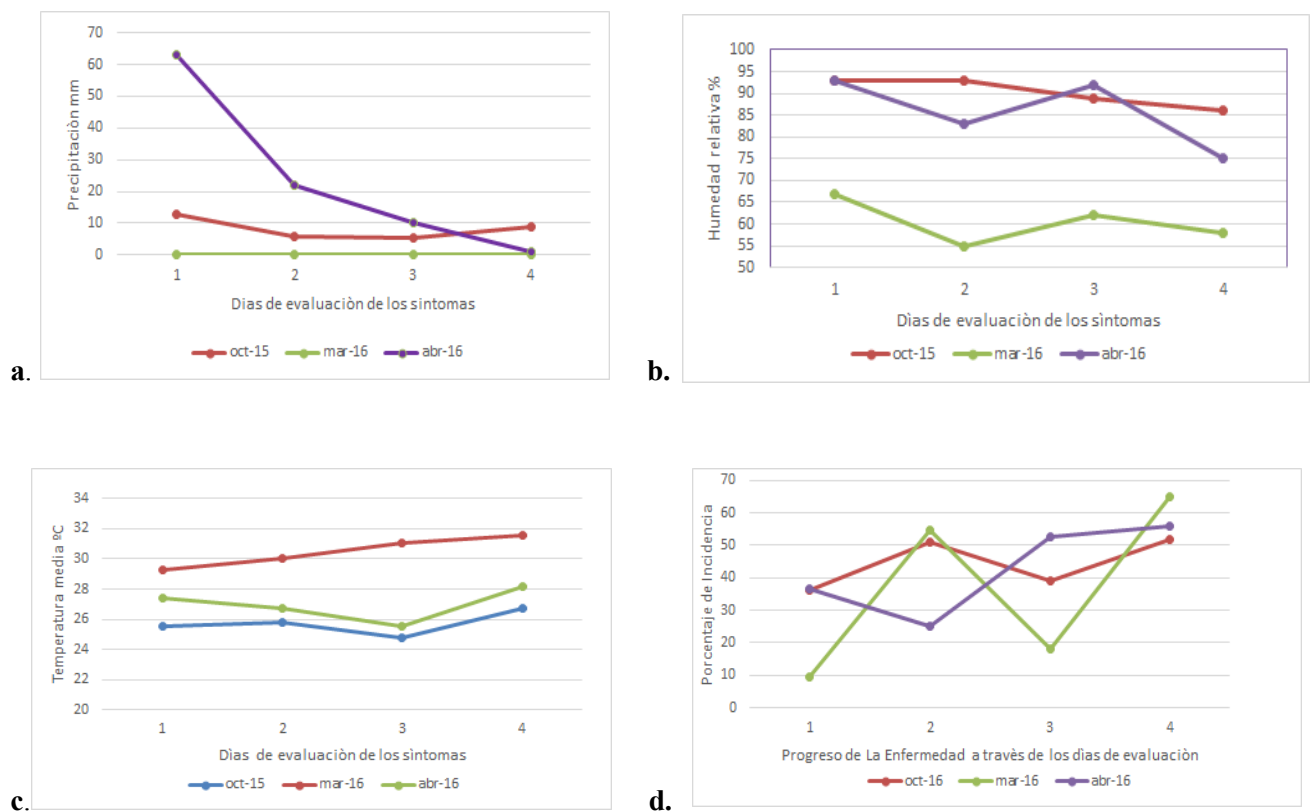
(\*) Promedios con la misma letra son estadísticamente iguales, bajo tasa de error del 5%.

Una vez aparecieron los primeros síntomas de la antracnosis en las flores de Lima Ácida Tahití, la mayor incidencia de la enfermedad en la primera evaluación se presentó en los meses de octubre de 2015 y marzo de 2016 con un 36% de flores afectadas en ambas floraciones, presentando el mismo porcentaje inicial debido a la similitud de condiciones climáticas durante las dos floraciones, humedad relativa de 88 %, temperatura media de 26°C, precipitación acumulada de 13 y 62 mm, y temperatura mínima 22 y 23°, respectivamente. Por su parte, durante la floración ocurrida en marzo en ausencia de lluvias el porcentaje de flores enfermas fue de 9%, para este momento la humedad relativa fue de 62%, la temperatura media de 30°C y temperatura mínima 26°C. A pesar de las diferencias en clima, la incidencia final para todas las floraciones estuvo por encima del 50% (Figura 10). Los resultados demuestran que al inicio, el porcentaje de flores enfermas depende de las condiciones climáticas, sin embargo, con el tiempo los niveles de enfermedad en las flores llega a ser altos, incluso en bajo condiciones de ausencia de lluvias (Figura 10)

#### 6.4 Número de cálices persistentes en ramas de Lima Ácida Tahití

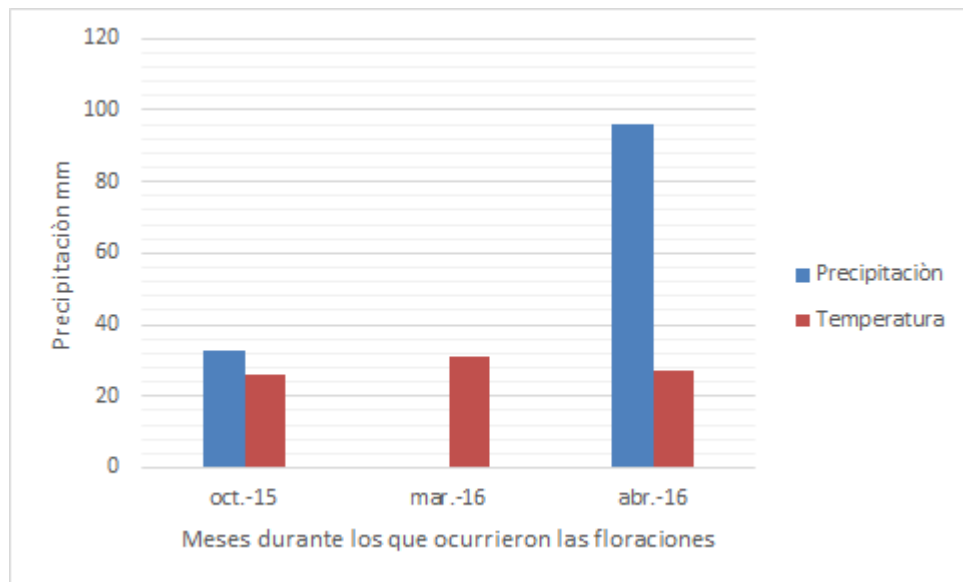
Los análisis de Varianza para la variable cálices persistentes no demostró diferencias significativas entre patrones ( $p > 0,05$ ), sin embargo cuando se comparó entre las diferentes floraciones ocurridas en Octubre de 2015, marzo y abril de 2016 se presentaron diferencias significativas para la variable cálices persistentes ( $p \leq 0.05$ ) (Anexo 5)

El porcentaje de cálices persistentes varió significativamente entre las tres floraciones de Lima ácida Tahití ocurridas en Octubre de 2015, marzo y abril de 2016. El mayor porcentaje de cálices persistentes se presentó en la floración de octubre siendo del 51% sin diferencias significativas con respecto a la floración de abril que registró un valor del 29%, dichas floraciones presentaron diferencias significativas con respecto a marzo, cuyo porcentaje de cálices persistentes fue más bajo, 3% (Figura 12). Los resultados de cálices persistentes se relacionan con las condiciones entre floraciones que variaron entre si, siendo la precipitación acumulada para los meses de octubre y abril de 33 y 96 mm, respectivamente, mientras que durante el mes de marzo no se registraron lluvias. Por otra parte la temperatura media registrada en octubre, marzo y abril fue de 26, 31 y 27 °C, respectivamente, demostrando el mayor número de cálices persistentes se presentó cuando se registraron lluvias y la temperatura fue más baja (Figura 11) .

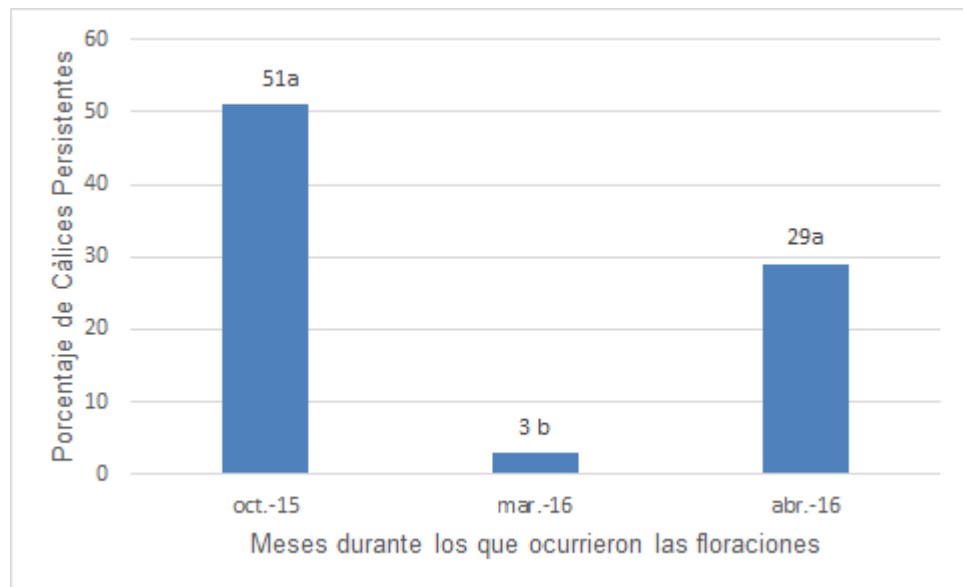


**Figura 10.** Variables climáticas e incidencia de la Antracnosis en flores de Lima âcida Tahiti durante las floraciones de Octubre de 2015, marzo y abril de 2016. **a.** Precipitación durante los 4 días de evaluación en las tres floraciones. **b.** Humedad Relativa. **c.** Temperatura media. **d.** Porcentaje de incidencia.





**Figura 11.** Precipitación acumulada y temperatura Media durante las floraciones de Octubre de 2015 y Marzo y abril de 2016



**Figura 12.** Porcentajes de cálices persistentes en ramas de Lima acid Tahiti registrados durante las floraciones de Octubre de 2015, marzo y abril de 2016

## 7 DISCUSIÓN

### 7.1 Elaboración y validación de escala de severidad

Los síntomas de la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) observados en Flores de Lima Ácida Tahiti son similares a los reportados por Rodrigues *et al.*, 2013 quienes manifestaron que *Colletotrichum acutatum* en flores de cítricos causa un necrosamiento en los pétalos color café oscuro, cuando la enfermedad llega a un estado avanzado se deteriora por completo la flor, según los autores, el patógeno forma acérvulos en la superficie del tejido, característico del género de hongo en ambos lados de los pétalos. En reportes previos Peres *et al.* (2008) coincide con el agente causal de la enfermedad y describe los síntomas como lesiones naranja- café en los pétalos, tanto en botones florales como en flores abiertas, dando como resultado la abscisión de frutos en desarrollo y la formación de cálices persistentes.

Los resultados de validación de la escala de severidad coinciden con reportes de Vieira *et al.* (2014) quienes demostraron que la escala de severidad del Marchitamiento de la Hoja de Maíz causada por *Setosphaeria turcica* es precisa, confiable y reproducible para la determinación de la severidad. Así mismo en otros estudios relacionados con la validación de la escala diagramática de severidad de la Mancha Angular en Frijol causada por *Pseudocercospora griseola* los autores reportaron que el uso de la escala de severidad favoreció la precisión en la determinación de la severidad con coeficientes de determinación desde 86 a 96%, además los errores disminuyeron con el uso de la escala en evaluadores que no tenían experiencia con la estimación del porcentaje de área afectada (Librelon et al., 2015). Los anteriores reportes confirman que el uso de sistemas estándar de para evaluación de enfermedad es la vía más efectiva que permite la confrontación de resultados desde diferentes grupos, lugares e instituciones (Michereff et al., 2009).

Con la escala elaborada es posible llenar vacíos en el conocimiento, estudios previos enfocados hacia determinar la efectividad de fungicidas frente al control de la Antracnosis causada por *Colletotrichum acutatum* en plantas de *Citrus sinensis* Souza (2009) utilizó una escala cualitativa para determinar la severidad de la antracnosis causada por *Colletotrichum* spp. que consistió en 0= ausencia de síntomas, 1: síntomas leve, solo un pétalo afectado; 2= síntoma moderado, de dos a tres pétalos afectados; 3= síntomas severo, cuatro a cinco pétalos afectados, sin embargo, no es correcto, debido a que la severidad de la enfermedad es expresada como el porcentaje o proporción de área de la planta o fruto destruido por un patógeno (Agrios, 2005) y un diagrama de severidad debe demostrar el área cubierta por una lesión causada por un patógeno (Campbell y Benson, 1994). Los reportes de Souza confirman la necesidad de la escala del patosistema *Colletotrichum* spp.-*Citrus latifolia*, que podrá ser utilizado en otras especies de cítricos. Sumado a esto, otras investigaciones enfocadas hacia la evaluación de estrategias de manejo de la Antracnosis, agente causal, *Colletotrichum acutatum*, utilizando productos químicos y biológicos, los

análisis de enfermedad solamente se basan en la estimación de la incidencia de la enfermedad (Goes *et al.*, 2008; Klein *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2014). De manera que futuros trabajos deberían estar enfocados hacia la búsqueda de nuevas estrategias de manejo de la enfermedad y la determinación de su efectividad por medio de diagramas de severidad.

## 7.2 Relación de Variables climáticas y el desarrollo de la enfermedad

Investigaciones realizadas por Roose (2014) demuestran que ciertos patrones como Carrizo, Volkameriana, Citromelo, Cleopatra, son tolerantes a algunos patógenos agentes causales de la gomosis (*Phytophthora spp.*), al virus de la tristeza (*Citrus tristeza virus*) y tolerantes a algunos nematodos de los cítricos, sin embargo, ningún patrón fue reportado como tolerante a *Colletotrichum spp.*, esto concuerda con los resultados obtenidos en Corpoica, la Libertad, durante las floraciones evaluadas en Octubre de 2015 y Marzo y Abril de 2016, los cuales demuestran que todos los patrones de Lima Ácida Tahití evaluados son susceptibles al agente causal de la enfermedad

Al comparar los resultados del progreso de la enfermedad expresado en incidencia y severidad a través del tiempo en cada una de las floraciones de Lima Ácida Tahití registradas en el lugar de estudio coincide con los reportes de Waller (1992) quien recalca que las enfermedades ocasionadas por *Colletotrichum spp.* en los tejidos jóvenes susceptibles ocurre un ciclo epidémico rápido de tal forma que los niveles de enfermedad crecen aceleradamente durante los periodos de las fases susceptibles del cultivo, que generalmente coinciden con las condiciones de humedad alta, además el periodo de latencia varía con relación a las condiciones climáticas y la fisiología del tejido. Sumado a esto, otros autores también coinciden con el comportamiento de la enfermedad observada en campo, es así como de Goes *et al.* (2008) demostraron que el manejo de la caída prematura de los frutos en cítricos o Antracnosis causada por *Colletotrichum acutatum* debe realizarse de manera oportuna, ya que cuando el patógeno se encuentra bajo condiciones ambientales favorables, los daños ocasionados aumentan de manera exponencial a través del tiempo, lo que dificulta el efecto positivo de los programas de control, incluso cuando se utilizan fungicidas adecuados. Por otra parte, en estudios más recientes el progreso de la Antracnosis en flores de Lima Ácida Tahití expresado en incidencia y severidad demostró un aumento significativo a través del tiempo, así lo demostraron Silva *et al.* (2013) quien en ensayos de campo en el que evaluaron el progreso de la Antracnosis o PFD en plantas de *Citrus Sinensis* durante floraciones ocurridas en el año 2009 en tres lugares diferentes se puede observar el avance de la enfermedad con el transcurso de los días, cuando las condiciones fueron favorables, es decir mayor frecuencia de lluvias en los ensayos 1 y 2 la enfermedad aumentó de manera más rápida, en el ensayo 1 la incidencia de la enfermedad aumentó de 5 al 73% dentro de 9 días. En el ensayo 2, la incidencia de la enfermedad aumentó de 13 a 98% dentro de 12 días. Mientras que con poca frecuencia de lluvias se observaron pocos árboles con síntomas después de ocurrido el primer día de lluvias. Esta incidencia se mantuvo sin cambios para los siguientes 20 días, pero la incidencia de la enfermedad final en ensayo 3 fue 70% al final del periodo de floración. Demostrando así el avance de la enfermedad a través del tiempo bajo diferente ocurrencia de lluvias. Los anteriores reportes reafirman la característica explosiva de la enfermedad (Soares *et al.*, 2015).

### 7.3 Evaluación del porcentaje de Cálices persistentes

El porcentaje de Cálices persistente durante los meses de Octubre y Abril fue mayor con respecto al mes de Marzo durante el cual no se registraron lluvias, por lo que a medida que las temperaturas fueron más bajas y las precipitaciones más altas, el porcentaje de cálices persistentes aumentó considerablemente. Estos resultados son similares a estudios realizados en Bebedouro, municipio Brasileño del estado de Sao Paulo, donde se evaluaron cinco clones diferentes de *Citrus latifolia*, los cuales fueron; IAC5, IAC5-1, CNPMF/EECB, CNPMF2000 y CNPMF2001 con el fin de comparar el número de cálices persistentes durante dos floraciones que ocurrieron bajo condiciones de precipitación y temperatura media diferentes. La primera floración ocurrió a 22° C y 37 mm de precipitación y la siguiente floración a 25° C y 15 mm de precipitación.

Se evidenció que los cálices persistentes fueron mayores en la primera floración con un valor de 37,82 % comparado con la siguiente floración la cual evidenció sólo 3,52% de cálices persistente, por lo que se demostró una diferencia significativa de cálices persistentes cuando se presentó una mayor precipitación acompañado de una menor temperatura Silva *et al.* (2014). Así también los confirman otros investigadores, entre ellos Neto *et al.* (2016) quienes en ensayos realizados en el Sur oeste de Sao Paulo, Brasil en 2009-2010, demuestran bajo dos pruebas de campo con plantas de *Citrus sinensis* en dos localidades, en Santa Cruz do Rio Pardo con 350 arboles (7,5 m X 3,8 m) de 18 años de edad y Taquarituba con 444 árboles (7,5 m X 3,0 m) de 20 años de edad. Las precipitaciones para Santa Cruz do Rio Pardo fueron menores a las de Taquarituba. El número de cálices persistentes fue mayor en Taquarituba con un valor de 9,22 donde las precipitaciones se presentaron con mayor frecuencia, con relación a Santa Cruz do Rio Pardo donde las precipitaciones fueron menores y su valor de número de cálices persistentes fue de 6,45. Lo anterior demuestra la importancia de variables climáticas como la precipitación sobre el desarrollo del patógeno y los pérdidas causadas en los frutos en desarrollo.

## 8 CONCLUSIONES

Se elaboró la escala de severidad del patosistema *Colletotrichum spp.*-Lima Ácida Tahití, que comprendió seis niveles 0: sano; 1: 1% del área afectada; 2: 3% del área afectada; 3: 6% del área afectada; 4: 12% del área afectada; 5: 25% del área afectada y 6: 50% del área afectada.

La validación de la escala severidad del patosistema *Colletotrichum spp.* -Lima Ácida Tahití, demostró que es una escala útil que permite a los evaluadores emitir estimaciones cercanas a la realidad, como lo revela el coeficiente de inclinación cercano a 1 y los coeficientes de determinación ( $R^2$ ) oscilaron entre 0.77 a 0.99, cercanos a 1 lo que demuestra una mayor dependencia entre las variables severidad estimada y severidad real.

Condiciones durante la etapa de floración de lluvias frecuentes, precipitación acumulada superior 30 mm, humedad relativa alta superior al 83% y temperatura media del 26°C, favorecen el desarrollo del patógeno en el tejido de la flor y posterior caída de los frutos en desarrollos, expresado en mayor porcentaje de cálices persistentes.

## 9 CRONOGRAMA

**Tabla 3.** Cronograma de actividades

Actividades	Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4	Sem 5	Sem 6	7	8	9	10	11	12
Recolección de flores en diferentes etapa de desarrollo de la enfermedad	x	x										
Toma de fotografías y determinación de área foliar enferma y sana			x									
Elaboración de escala de severidad			x	x								
Validación de escala de severidad				x	x	x						
Evaluación del desarrollo de antracnosis con escala de severidad en campo, toma de datos de incidencia y cálices persistentes (Durante 3 floraciones que comprendieron épocas diferentes)							x	x	x			
Relación de Variables climáticas con desarrollo de la enfermedad										x		
Análisis estadístico, Elaboración informe final											x	x

## 10 PRESUPUESTO

**Tabla 4.** Presupuesto

ITEM	Valor en Especie	Valor en efectivo	Total
Personal-Docente	1'500.000		1'500.000
Computador	2.500.000		2'500.000
Transporte		200.000	200.000
Cámara Digital	\$400.000		400.000
Impresiones		50.000	50'000
Resma Papel		30.000	30.000
Marcadores		10.000	10.000
Total	4'400.000	290.000	4'690.000

## 11 BIBLIOGRAFÍA

AGOSTINI, J., GOTTWALD, T. AND TIMMER, L. Temporal and spatial dynamics of postbloom fruit drop of citrus in Florida. *Ecology and Epidemiology* 1993..

AGRIOS, G. *Plant pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press. 921 p. 2005

ALARCON J, AREVALO E, DIAZ A, GALINDO J, RIVERO M. Manejo Fitosanitario del Cultivo de cítricos (Citrus) Medidas para la temporada invernal. Cartilla ICA. p. 24. 2012.

AMORIM, L., BALDAUF, C., GUILLARDI, M., SOUZA, A. AND SILVA, J. .Recent introduction and recombination in *Colletotrichum acutatum* populations associated with citrus postbloom fruit drop epidemics. São Paulo. 2014.

ANGELOTTILL, F., BOGOLL, A., PEREIRA, B., SCAPIN, C., TESSMANN, D. AND VIEIRAL, R. Elaboration and validation of a diagrammatic scale to assess downy mildew severity in grapevine. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.44, n.8, 2014.

ARANGO., ORDUZ, J. Y LEÓN, G., Lima ácida Tahití: opción agrícola para los Llanos Orientales de Colombia. Corpoica. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, La Libertad. 2009

BARBEDO, J. *Digital image processing techniques for detecting, quantifying and classifying plant diseases*. SpringerPlus 2013.

BERNAL, J. E HINCAPIE, M. TAMAYO, A. *Frutales de clima cálido*. Cartilla divulgativa. Corpoica, 2001

BOCK, H., COOK, A., GOTTWALD, AND T., PARKER, P.. Visual rating and the use of image analysis for assessing different symptoms of citrus canker on grapefruit leaves. *Plant Disease*. 2008.



- BRUCE C and MICHEREFF S. Biology of *Colletotrichum* spp. and epidemiology of the anthracnose in tropical fruit trees. *Revista Caatinga*, 26(4): 130-138. 2013.
- CAMPBELL, C., y Benson, D., Epidemiology and managements of root diseases. Springer-Verlag Berlin. 335 p. 19944
- CAICEDO, A., GÓMEZ, J., MUÑOZ, O. Y TRIVIÑO, A., Bases para la certificación de plántulas de cítricos libres de enfermedades en Colombia. Boletín técnico Corpoica C.I. Palmira. 2006.
- CASTAÑO, J. Principios básicos de fitoepidemiología. Editorial Universidad de Caldas.. 2002.
- DE GOES, A., Garrido, R., Reis, R., Balsassari, R., Soares, M.. Evaluation of fungicide applications to sweet orange at different flowering stages for control of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum*. *Crop protection* 27: 71-76. 2008
- GAUNT, R. Measurement of disease and pathogens Ed. crop. Los assessment and pest management. APS press, St. Minnesota. 1987.
- GUILLARDI M., BALDAUF C., SOUZA A., SILVA G., AMORIM L. Recent introduction and recombination in *Colletotrichum acutatum* populations associated with citrus postbloom fruit drop epidemics in São Paulo, Brazil. *Phytopathology* 104(7):769-782014.
- GUTIÉRREZ, A., MATEUS, D., ORDUZ, J. Y PULIDO, X. Evaluación económica de la producción de cítricos cultivados en el piedemonte del departamento del Meta durante 12 años. Orinoquia, 2010.
- HERNANDEZ A, RODRIGUEZ O, SILIEZAR C. Determinación del tiempo de Floración a Fruto de Limón Pérsico (*Citrus latifolia* Tan.) en 3 diferentes pisos altitudinales. Trabajo

de grado para optar por el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de el Salvador. p. 109. 2003.

HUERTA G, HOLGUIN F, BENITEZ A, TOLEDO J.. Epidemiología de la Antracnosis [*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc.] en Mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo en el Soconusco, Chiapas, México. 94/Volumen 27, número 2. 2009

LIBRELON, S., Souza, E., Pereira, R., Pozza, E., Abreu, A. Diagrammatic scale to evaluate angular leaf spot severity in primary leaves of common bean. Australasian Plant Pathology. 44: 385-395. 2015.

KLEIN, M., Silva, A., Lopes, M. Kupper, K. Application of microorganisms, alone or in combination, to control postbloom fruit drop in citrus. Tropical plant Pathology. 38 (6): 505-512. 2013.

MACKENZIE S, PERES N, TIMMER L. Colonization of citrus leaves and secondary conidiation response to citrus flower extracts by non-postbloom fruit drop strains of *Colletotrichum acutatum*. Tropical Plant Pathology, 35 (6): 333-342. 2010.

MATEUS D, PULIDO X, GUTIERREZ A, ORDUZ J. Evaluación económica de la producción de cítricos cultivados en el piedemonte del departamento del Meta durante 12 años. Orinoquia, 14(1): 16-26. 2010

MICHEREFF, S., Noronha, M., Lima, G., Albert, I., Melo, E., Gusmao, L. Diagrammatic scale to assess downy mildew severity in melon. Horticultura Brasileira, v.27, n. 1, p.76-79, 2009

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL. Observatorio agro cadenas Colombia. 2006.

NAQVI, S. Diseases of fruits and vegetables. Diagnosis and management. Volume I. Kluwer Academic publishers. 2004.

NETO, H., Mourao, F., Sanches, E. y Bellato, Marcel. SUSCETIBILIDADE DE CLONES DE LIMA ÁCIDA ‘TAHITI’ À PODRIDÃO FLORAL DOS CITROS. Revista Brasileira de Fruticultura. 38 (1): 222-225. Doi:10.1590/0100-2945-060/15. 2016

ORDUZ J, LEÓN G, ARANGO L. 2009. Lima ácida Tahití: opción agrícola para los Llanos Orientales de Colombia. Corpoica. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA, La Libertad. p. 16.

Peres, N. A., MacKenzie, S. J., Peever, T. L., and Timmer, L. W. 2008. Postbloom fruit drop of citrus and Key lime anthracnose are caused by distinct phylogenetic lineages of *Colletotrichum acutatum*. Phytopathology 98:345-352.

QUIEROGA, F., HERNÁNDEZ, F., SILVA, M., ORDUZ, F. Comportamiento de la producción de lima Thiti (*Citrus latifolia* Tanaka), injertada sobre el patrón de Mandarina Cleopatra (*Citrus reticulata* Blanco) y la influencia del virus de la tristeza (CTV) en condiciones del piedemonte del Meta, 1997-2008- Orinoquía 14(1):5-15.2010

RASBAND, W. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland. USA. 2014

RODRIGUES J, AMORIM L, BELLATO M. Histopathology of postbloom fruit drop caused by *Colletotrichum acutatum* in citrus flowers. European Journal of Plant Pathology, 135(4):783-790. 2013.

ROOSE, M. 2014. Rootstocks. En: FERGUSON, L., ELIZABETH, E., GRAFTON, CARDWELL. Citrus Production Manual. University of California. Agriculture and natural resources. Publication 3539. 95 p.

SARMIENTO, J., RIVAS, W. Y MENJÍVAR, A. Guía técnica de las principales plagas artropodas y enfermedades de los frutales. Ministerio de agricultura y ganadería Primera edición. 2005.

SILVA, G., Bellato, M., Rogerio, D., Amorim, L.. Efficacy and timing of application of fungicides for control of citrus postbloom fruit drop. Crop Protection 59: 51–56. 2014

SOARES R., GODOY C., de OLIVEIRA M. Escala diagramática para avaliação da severidade da mancha alvo da soja. *Tropical Plant Pathology*, (34) 5:333-338. 2009.

SOARES, A., Alvares, C., Sentelhas, P.. An agro-climatic approach to determine citrus postbloom fruit drop risk in Southern Brazil. *International Journal of Biometeorology*. 60 (6): 891-905. 2015

SOUZA, G.. Podridao Floral dos citros: Variabilidade, sobrevivencia e controle do agente causal *Colletotrichum acutatum*. 2009

VANEGAS, M. Guía Técnica del cultivo del Limón Pérsico. Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura. Primera Edición. 44 p. 2002.

VIEIRA, R., Mesquini, R., Silva, C., Hata, F., Tessmann, D., Scapim, C.. A new diagrammatic scale for the assessment of northern corn leaf blight. *Crop Protection* 56:55-57. 2014

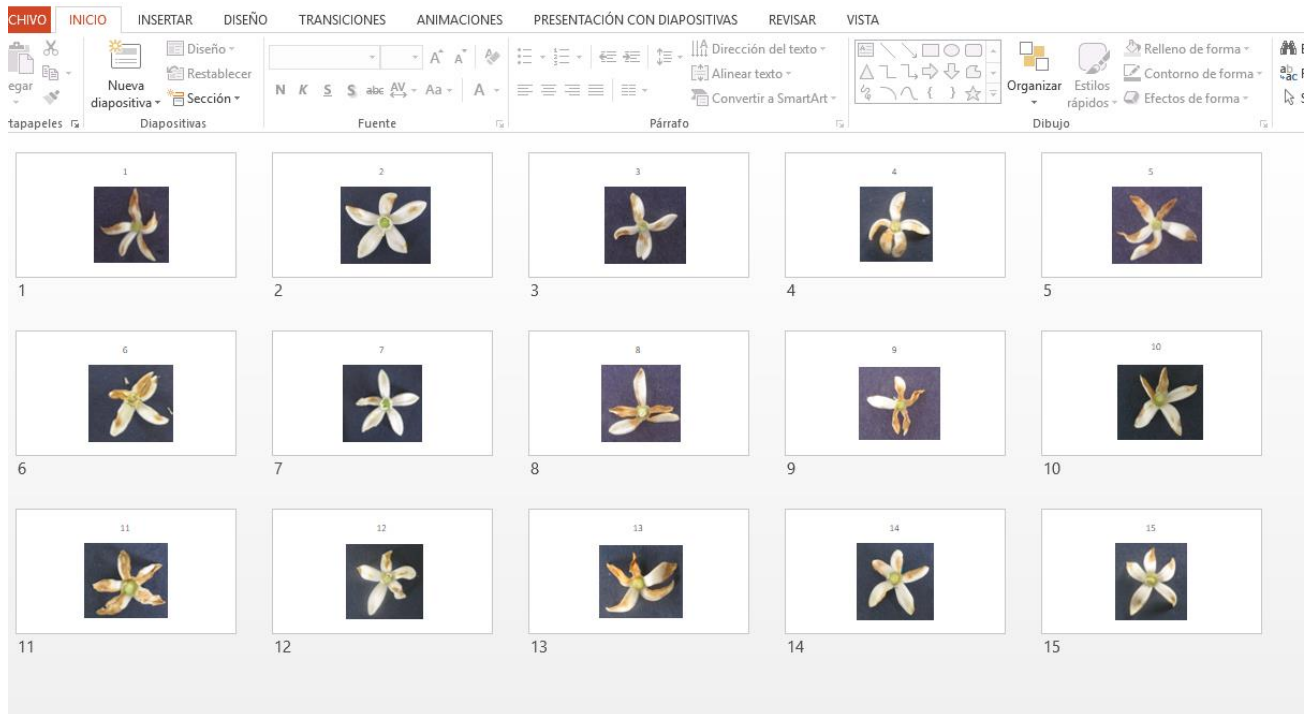
WALLER, J. *Colletotrichum* diseases of perennial and other cash crops. En: *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Balley, J and Jeger, M.,(eds). CAB International. pp 167-179.

SILVA, G., Spósito, B., Marin, D., Amorim, L. Efficacy and timing of application of fungicides for control of citrus postbloom fruit drop. *Crop Protection* 59: 51-56. 2014.

SILVA, G., Sposito, M., Marin, D., Ribeiro, P. and Amorin, L. Spatiotemporal characterization of citrus postbloom fruit drop in Brazil and its relationship to pathogen dispersal. *Plant pathology*. 1-11 Doi: 10.1111/pps.12138. 2013.

## 12 ANEXOS

**Anexo 1.** .Imagenes proyectadas a las personas que participaron de la validación de la escala de severidad



## Anexo 2. Formato de registro de severidad estimada

### UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Trabajo de Grado:** Elaboración y validación de escala diagramática de severidad de la antracnosis (*Colletotrichum* spp.) en Lima Ácida Tahití y su aplicación bajo condiciones de campo.

Nombre Jonathan S. Martínez Cardona

1. Por favor observe las imágenes y según su criterio determine el porcentaje de área afectada en cada flor. Valor mínimo 1% y valor máximo 50%.

Número de Imagen	Porcentaje de Severidad
1	23%.
2	10%.
3	18%.
4	26%.
5	30%.
6	28%.
7	3%.
8	32%.
9	50%.
10	27%.
11	50%.
12	12%.
13	45%.
14	25%.
15	24%.

### Anexo 3. Análisis de varianza Severidad Vs Patrón, Mes de floración, Días de evaluación de la enfermedad

```
> sp.plot(Mes, Patron, Fenologia, (Severidad+1)**-0.3)

ANALYSIS SPLIT PLOT: (Severidad + 1)^-0.3
Class level information

Patron : 1 2 3 4 5 6
Fenologia : 1 2 3 4
Mes : 1 2 3

Number of observations: 576

Analysis of Variance Table

Response: (Severidad + 1)^-0.3
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Mes      2  0.7630  0.38149   2.3792   0.1428
Patron    5  0.2690  0.05380   0.3355   0.8801
Ea       10  1.6034  0.16034   0.5944   0.9584
Fenologia  3  5.4350  1.81167  18.1867 2.371e-07 ***
Patron:Fenologia 15  0.4300  0.02867   0.2878   0.9938
Eb       36  3.5861  0.09962   0.5944   0.9584
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

cv(a) = 54.9 %, cv(b) = 43.3 %, Mean = 0.7289155
```

### Anexo 4. Análisis de Varianza Incidencia Vs Patrón, Mes de floración, Días de evaluación de la enfermedad

```
ANALYSIS SPLIT PLOT: log(Incidencia + 1)
Class level information

Patron : 1 2 3 4 5 6
Fenologia : 1 2 3 4
Mes : 1 2 3

Number of observations: 576

Analysis of Variance Table

Response: log(Incidencia + 1)
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Mes      2  1.592  0.796  0.0939   0.9112
Patron    5 22.384  4.477  0.5278   0.7509
Ea       10 84.814  8.481  0.5961   0.9576
Fenologia  3 244.127 81.376 11.8786 1.478e-05 ***
Patron:Fenologia 15  24.778  1.652  0.2411   0.9976
Eb       36 246.623  6.851  0.5961   0.9576
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

cv(a) = 126 %, cv(b) = 113.2 %, Mean = 2.312179
```

## Anexo 5. . Anova Calices persistentes vs patron

```
> m6b<-aov(log(Calices+1)~Meses+Patrones+Error(Meses/Patrones), data=Calices)
> summary(m6b)
```

Error: Meses				
	Df	Sum Sq	Mean Sq	
Meses	2	245.6	122.8	

Error: Meses:Patrones					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Patrones	5	8.033	1.607	0.593	0.707
Residuals	10	27.105	2.711		

Error: Within					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Residuals	126	212.9	1.689		

## Anexo 6. Anova cálices persistentes vs mes

```
> m6c<-aov(log(Calices+1)~Meses+Patrones+Error(Patrones/Meses), data=Calices)
> summary(m6c)
```

Error: Patrones				
	Df	Sum Sq	Mean Sq	
Patrones	5	8.033	1.607	

Error: Patrones:Meses					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Meses	2	245.59	122.80	45.3	9.7e-06 ***
Residuals	10	27.11	2.71		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Error: Within					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Residuals	126	212.9	1.689		